

抗原特異的B細胞を用いた抗原提示に関する基礎的研究

奈良県立医科大学第3内科学教室

吉川正英, 北神敬司, 松村圭祐
福井博, 石坂重昭, 辻井正

マウントサイナイ病院研究所, トロント大学免疫分子生物学教室
穂積信道

ANALYSIS OF ANTIGEN PRESENTATION TO ANTIGEN SPECIFIC T CELLS USING B LYMPHOMA CELLS SPECIFIC FOR DEFINED ANTIGEN

MASAHIDE YOSHIKAWA, KEIJI KITAGAMI,
KEISUKE MATSUMURA, HIROSHI FUKUI,
SHIGEAKI ISHIZAKA and TADASU TSUJII

Third Department of Internal Medicine, Nara Medical University

NOBUMICHI HOZUMI

*Mount Sinai Hospital Research Institute, Department of Immunology
and Molecular Biology, University of Toronto*

Received April 13, 1993

Summary : We have studied the function of antigen specific immunoglobulin (Ig) receptors in antigen presentation. Monoclonal B cell lines expressing antigen specific surface IgM, IgD or IgG were established by transferring the gene encoding heavy (μ , δ or γ) and light (κ) chains specific for the hapten 2, 4, 6-trinitrophenyl (TNP) into Ia bearing B cell lymphoma A 20-2 J and WEHI 279 lines. Transfectants were compared in a quantitative assay for the ability to present TNP-carrier to carrier-specific T helper (Th) cells. The A 20-2 J-derived transfectants expressing $\mu\kappa_{\text{TNP}}$, $\delta\kappa_{\text{TNP}}$ or $\gamma\kappa_{\text{TNP}}$ had similar amounts of the TNP-specific idiotype on their surface and showed an equal capacity to present antigen, which was about 1000-fold more efficient than that of the parental line. However, the $\gamma\kappa_{\text{TNP}}$ transfectant of WEHI 279 line expressed lower amounts of the idiotype than $\mu\kappa_{\text{TNP}}$ or $\delta\kappa_{\text{TNP}}$ transfectant and exhibited a decreased capacity of antigen presentation. It was suggested that the antigen presenting capacity of antigen-specific B cells depends on the amount of the idiotype expressed, regardless of its Ig isotype.

In addition, a Th hybridoma line used in this study exhibited cytotoxic activity to antigen presenting cell as well as IL-2 production when it was activated. Interestingly, cytotoxicities were also found to NK-resistant cells and to human tumor cells. The target recognition of Th cells was supposed to be different from that of NK cells or cytotoxic T cells.

Index Terms

antigen presentation, helper T cell, antigen specific B cell, IL-2 production, cytotoxicity

緒言

T細胞存在性抗原の免疫反応には、少なくとも3種類の機能の異なる免疫担当細胞が共同して働くことが必要である。すなわち、ヘルパーT細胞(Th細胞)と抗体産生細胞(B細胞)、そして抗原提示細胞(Antigen Presenting Cell, APC)の3種類である¹⁾²⁾。APCは、その表面に主要組織適合性抗原分子(Major Histocompatibility Complex gene product, MHC)を表出し、Th細胞は抗原エピトープをこのMHC抗原分子とともに認識する(MHC restriction)。APCとして、代表的なマクロファージ³⁾はよく研究されているが、他にも皮膚のLangerhans細胞⁴⁾、樹状細胞⁵⁾、肝のクッパー細胞⁶⁾⁷⁾⁸⁾、活性化T細胞などが知られている。

これらの抗原提示における免疫担当細胞の質的役割については従来より研究されていたが、生化学的あるいは量的側面については詳しく研究されていなかった。その理由のひとつに、ある抗原を特異的に処理するモノクローナルなAPC株が無かったことが挙げられる。近年、Bリンパ腫細胞がTh細胞に抗原を提示できることが示され⁹⁾¹⁰⁾、抗原提示細胞としてのB細胞の機能が注目されるようになってきた。Lanzavecchiaは、Epstein-Barr virusによりトランスフォームして得たテタヌストキソイドに特異的なヒトB細胞株を用いて、抗原特異的B細胞が非常に効率よく抗原をTh細胞に提示することを明らかにした¹¹⁾。しかし、この場合、この抗原特異的B細胞株を用いてテタヌストキソイド特異的Th細胞とのcollaborationをみることはできて、他の蛋白抗原の提示には利用できない欠点がある。この点を克服したのがハプテン特異的なB細胞株の樹立である¹²⁾。Recombinant DNAおよびgene transferのテクニックを用いハプテンであるTrinitrophenyl(TNP)に特異的なB細胞株が樹立された。このようにハプテン化した蛋白を抗原として使用することで、種々の抗原特異的Th細胞とハプテン特異的B細胞とのT cell-B cell interactionの解析がモノクローナルなレベルで可能となった。一方、抗原特異的なTh細胞クローンあるいはThハイブリドーマ細胞の樹立については比較的早くより知られていたが、活性化されたTh細胞の細胞障害活性についても最近知られるようになってきた^{13)~19)}。本研究ではこのハプテン特異的B細胞と抗原特異的Thハイブリドーマ細胞を用い、

抗原提示におけるB細胞表面免疫グロブリン(surface Ig, sIg)の役割およびTh細胞にみられたcytotoxic functionについて解析した。

実験方法

1. Thハイブリドーマ細胞

Ovalbumin(OVA)特異的Thハイブリドーマ細胞として3DO54.8(I-A^d restricted)²⁰⁾、Keyhole limpet hemocyanin(KLH)特異的Thハイブリドーマ細胞としてCAK1-22(I-E^d restricted)²¹⁾を用いた。

2. APCs

Balb/cマウス由来Bリンパ腫株A20-2J¹²⁾および(Balb/c x NZB)F1マウス由来Bリンパ腫株WEHI279²²⁾を親株として用いた。A20-2J、WEHI279は、それぞれ表面にIgG、IgMを表出しているがこれらのspecificityは不明である。これら親株にTNP特異的

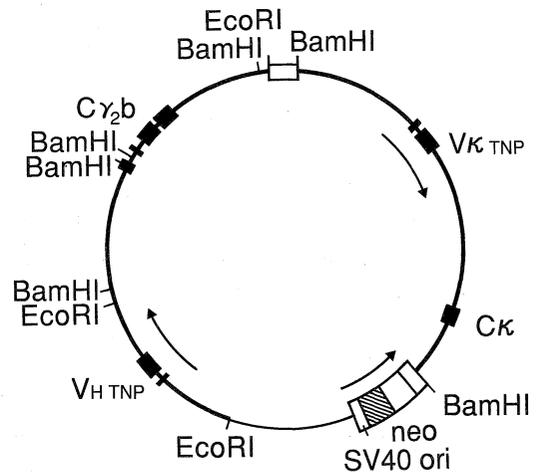


Fig. 1. Structure of the transducing vector pRγκtnp. The vector carries the rearranged γ tnp (11.6 kilobase pairs) and κ tnp (9.6 kilobase pairs) gene at the EcoRI and BamHI sites of pSV2neo, respectively (24). Black boxes indicate coding segments for the Tnp-specific heavy-chain variable region (VHtnp), for the γ heavychain constant (Cγ2b), and for the κ light-chain constant (Cκ) and Tnp-specific variable region (Vκ tnp) regions. The direction of transcription of the Ig genes and the simian virus 40 (SV40) early promoter are indicated by arrows.

な抗体をコードするDNAを含むプラスミドベクター pRHLtnp¹²⁾, pR δ xtnp²³⁾, pR γ xtnp(Fig. 1)を protoplast 融合法²⁴⁾または electroporation 法²⁵⁾にて移入し, ネオマイシン誘導体である G 418 を含む培養液中にて選択培養を行い, TNP 特異的な IgM, IgD あるいは IgG(sIgMt-np, sIgDt-np, sIgGt-np)を表出する transfectant を得た. A 20-HL, A δ κ ₁₀, A 20-G は A 20-2 J を親株とし, それぞれ sIgMt-np, sIgDt-np, sIgGt-np を表出し, WEHI 279-M, WEHI 279-D, WEHI 279-G は WEHI 279 を親株とし, それぞれ sIgMt-np, sIgDt-np, sIgGt-np を表出している.

3. Flow Microfluorimetric Analysis(FACS)

各 transfectant の表出する heavy chain 超可変領域 Sp 603 イデオタイプ²⁶⁾の量を抗イデオタイプ抗体 anti-Sp 603(α Sp 603)を用いて測定した. すなわち, 細胞 1×10^4 を, ビオチン化した, α Sp 603 と共に氷上にて 10 分間静置の後 3 回洗浄し, アビジン-FITC で 10 分間標識した. 3 回洗浄の後, EPICS-C coulter flow microfluorimeter で分析した.

4. Bystander 細胞

C 57 BL/6 N マウス由来 T リンパ細胞腫株 EL-4²⁷⁾, DBA/2 マウス由来 mastocytoma 株 P 815²⁸⁾, マウス B リンパ腫株 TA 3.3²⁹⁾, Balb/c マウス胎児肝由来肝癌細胞株 BNL 1 MEA. 7 R. 1(A 7 R)³⁰⁾, ヒト肝癌細胞株で HBsAg を分泌する PLC/PRF/5³¹⁾および慢性リンパ性白血病患者の末梢血より樹立した B リンパ腫瘍株 CLL. 10³²⁾を用いた.

5. モノクロナール抗体

抗 Ia モノクロナール抗体産生 B リンパ腫細胞 14-4-4 S(抗 I-E^d), 34-5-3 S(抗 I-A^d), MKD-6(抗 I-A^d)は American Type Culture Collection より購入し, その培養上清を用いた. また, 抗イデオタイプ抗体 α Sp 603 は, α Sp 603 を分泌する B リンパ腫細胞(α Sp 603)の培養上清を用いた.

6. 抗原

OVA, KLH の他に TNP 化した Tnp-OVA, Tnp-KLH を用いた. OVA peptide₃₂₃₋₃₃₉ Tyr (ISQAVHAAHA-EINEAGRY)は Beckman 990 B ペプチド人工合成機により合成した. C 末端の Tyr は, 274 nm での吸光度による濃度測定を容易にするため付加した. Tyr の付加によりペプチドの抗原性が影響を受けないことは既に示されている³³⁾.

7. Antigen Presenting Assay

96 穴平底プレートにて APC 1×10^5 を Th 細胞 5×10^4 と共に 10 % FCS を含む RPMI 1640 培養液 200

μ l 中で, 抗原の存在下あるいは非存在下で 24 時間培養した. その後, 培養上清を集め IL-2 dependent cell line (CTL. L)の DNA 合成を指標に IL-2 活性を測定した. すなわち, CTL.L 1×10^4 を 10 % FCS を含む RPMI 1640 培養液 100 μ l 中で培養し, 含 IL-2 上清を 20 μ l 加えた. 培養開始 20 時間後に 1μ Ci の ³H-Thymidine(TdR)を加え, さらに 4 時間のパルスの後 TdR の取り込みを測定した. データは triplicate の平均である.

8. ⁵¹Cr Release Assay

Bystander 細胞を 100 μ Ci の Na₂CrO₄ (1 mCi/ml, Amersham)で 37 °C 1 時間標識し, RPMI 1640 にて 3 回洗浄の後使用した. V 底 96 穴マイクロプレートを用い, Bystander 細胞 1×10^4 を APC 1×10^5 , Th 細胞 5×10^4 と共に 10 % FCS を含む RPMI 1640 培養液 200 μ l 中で, 抗原の存在下あるいは非存在下で培養した. 培養 16 時間後, 上清 100 μ l を採取し γ -シンチレーションカウンターで上清中の放射活性を測定した. % cytotoxicity は次式により算出した.

$$\% \text{ cytotoxicity} = \{(a-b)/(c-b)\} \times 100$$

ただし a : 実験群遊離放射活性

b : 自然遊離放射活性

c : 最大遊離放射活性

なお, 自然遊離群には Bystander 細胞浮遊液 100 μ l に 100 μ l の培養液を, また最大遊離放射活性には Bystander 細胞浮遊液 100 μ l に 1 % Triton X-100 を 100 μ l 加えて放射活性を測定した. APC 細胞をターゲット細胞としたときは, Antigen presenting assay に準じ APC を ⁵¹Cr 標識し, 同様に cytotoxicity を計算した.

結 果

1. Sp 603 イデオタイプ量の測定

抗イデオタイプ抗体 α Sp 603 を用いて各 transfectant 及び親株に表出されたイデオタイプ量を FACS 解析した(Fig. 2). A 20-HL, A δ κ ₁₀, A 20-G の Sp 603 イデオタイプの表出量はほぼ等しかった. 一方, WEHI 279-M と WEHI 279-D は同程度の Sp 603 イデオタイプの表出を認めたが, WEHI 279-G ではやや少ない量であった. また, モノクロナール抗体 14-4-4 S, MKD-6 を用いて Ia の表出量を FACS 解析したが, いずれの transfectant も親株とほぼ等しかった(data not shown).

2. Antigen Presenting Assay

A 20-HL, A δ κ ₁₀, A 20-G は, 抗原として Tnp-OVA を用いた場合, 親株 A 20-2 J より約 10³ 倍の低い抗原濃

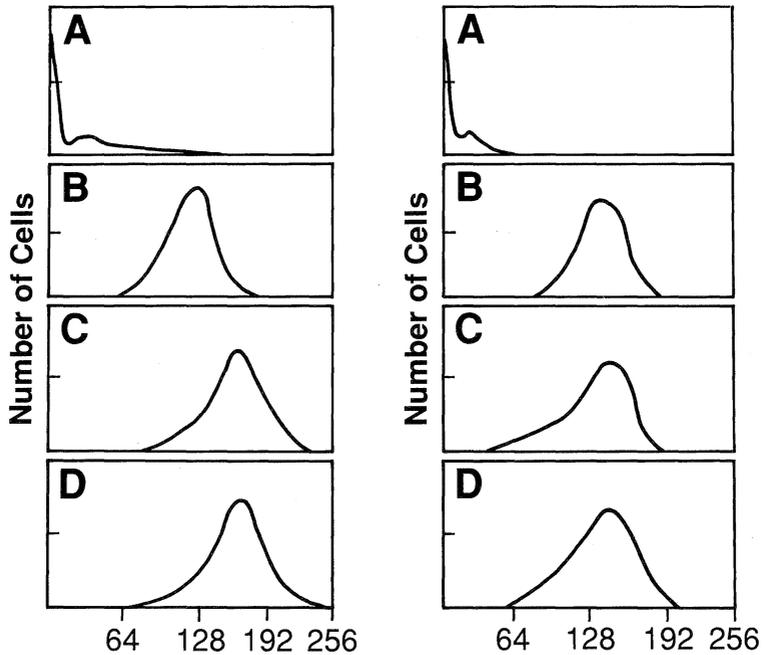


Fig. 2. Flow microfluorimetric analysis. Cells were treated with biotinylated anti-Sp603 followed by fluorescent avidin.
 A, B, C, D (right); A20-2 J, A20-G, A20-HL, Aσκ₁₀, respectively.
 A, B, C, D (left); WEHI 279, WEHI 279-M, WEHI 279-D, respectively.

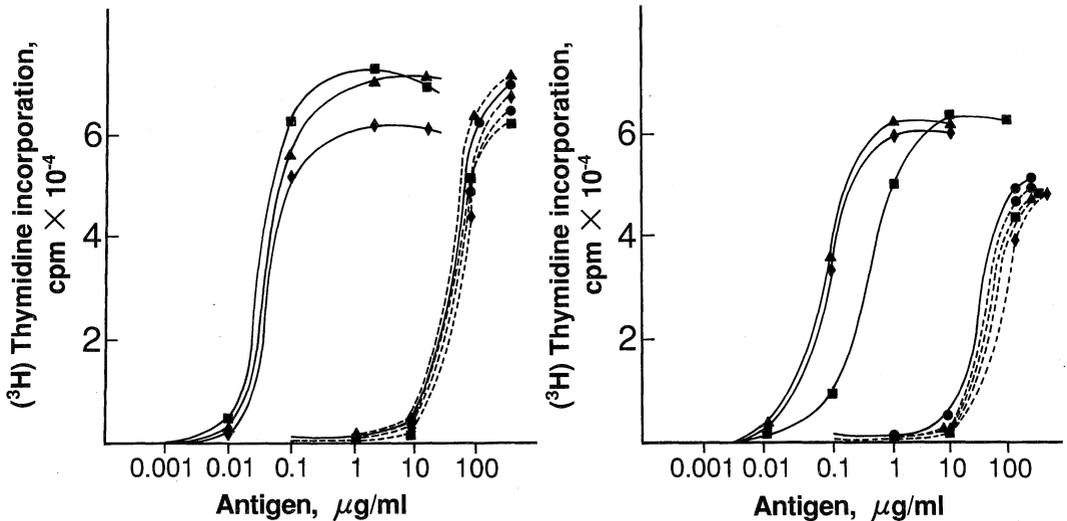


Fig. 3. Antigen presentation to OVA-specific Th cell (3DO54. 8). 3DO54. 8 cells (5×10^4) were cultured with 10^5 APCs in the presence of the antigen OVA(---) or Tnp-OVA(—).
 left: A20-2 J(●), A20-G(■), A20-HL(▲), Aσκ₁₀(◆).
 right: WEHI 279(●), WEHI 279-G(■), WEHI 279-M(▲), WEHI 279-D(◆).

度で Th 細胞を活性化し得た。抗原として OVA を用いた場合、親株と各 transfectant の間で Th 細胞への抗原示能に差を認めなかった(Fig. 3, left)。一方、WEHI 279

-M と WEHI 279-D は親株に比べ Tnp-OVA を約 10^3 倍の低い濃度で Th 細胞に抗原提示できたが、WEHI 279-G では親株より約 10^2 倍効率よく Th 細胞を

活性化するとどまった(Fig. 3, right). KLH あるいは Tnp-KLH を用いて CAK 1.22 の活性化をみても各 transfectant の抗原提示能は親株と比較して、OVA,

Tnp-OVA の場合と同様であった(Fig. 4).

3. Th 細胞の APC に対する細胞障害性

⁵¹Cr release assay にて Th 細胞の APC に対する細胞

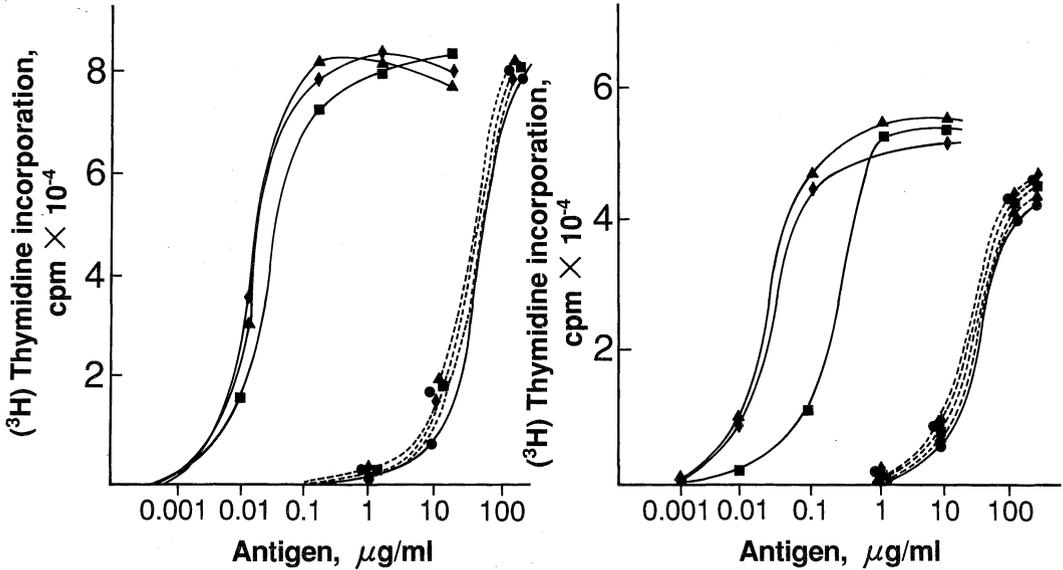


Fig. 4. Antigen presentation to KLH-specific Th cell (CAK 1-22). CAK 1-22 (5×10^4) were cultured with 10^5 APCs in the presence of the antigen KLH(---) or Tnp-KLH(—).
 left: A20-2J(●), A20-G(■), A20-HL(▲), A σ_{x10} (◆).
 right: WEHI 279(●), WEHI 279-G(■), WEHI 279-M(▲), WEHI 279-D(◆).

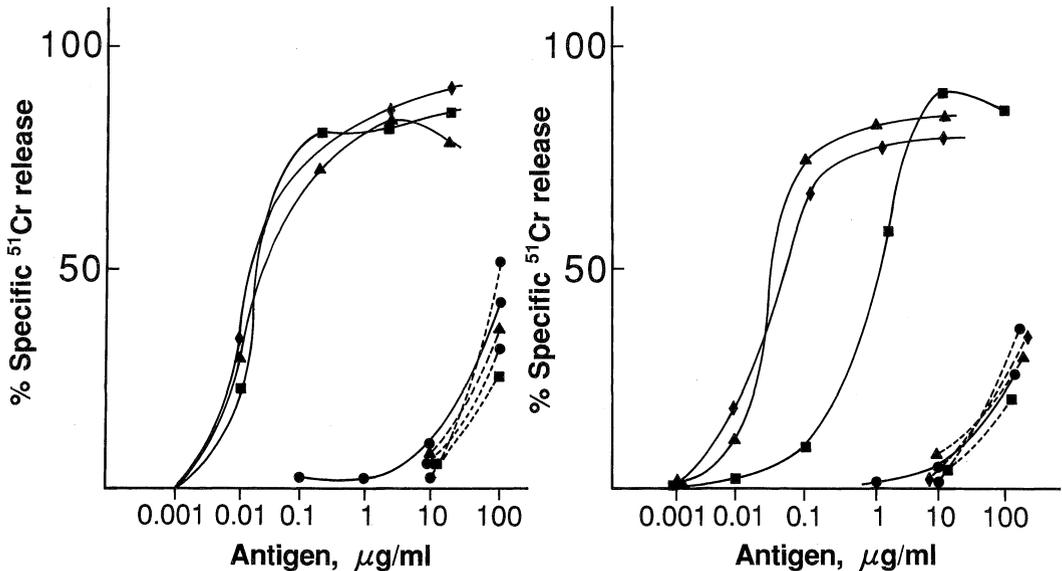


Fig. 5. Cytolysis of APCs. 3 DO 54.8 cells (5×10^4) were cultured with 10^5 ⁵¹Cr-labelled APCs in the presence of the antigen OVA(---) or Tnp-OVA(—).
 left: A20-2J(●), A20-G(■), A20-HL(▲), A σ_{x10} (◆).
 right: WEHI 279(●), WEHI 279-G(■), WEHI 279-M(▲), WEHI 279-D(◆).

障害性をみた(Fig. 5). 抗原として Tnp-OVA を用いた場合 A 20-HL, A δ κ 10, A 20-G は親株 A 20-2 J よりも約 10^3 倍の低い抗原濃度で傷害された. WEHI 279-M, WEHI 279-D も親株 WEHI 279 より, 約 10^3 倍の低い抗原濃度で傷害されたが, WEHI 279-G はそれらよりはやや高い抗原濃度を必要とした. OVA を抗原として用いた場合, 親株は, それぞれの transfectant と cytotoxicity のみられる濃度に差はなかった. KLH あるいは Tnp-KLH を用いて CAK 1.22 の APC に対する cytotoxicity をみても同様の結果であった(data not shown).

4. 抗イデオタイプ抗体による抗原提示のブロック

抗イデオタイプ抗体 α Sp 603 は, transfectant による

Tnp-OVA の Th 細胞への抗原提示を抑制した(Table 1). しかし, 抗原として OVA を用いた場合, この抑制現象はみられたかった. OVA ペプチドによる Th 細胞の活性化は α Sp 603 により抑制されなかった.

5. Th 細胞の Bystander 細胞への細胞障害性

抗原として Tnp-OVA を, APC として A 20-HL を用いて 3 DO 54.8 の bystander 細胞への細胞障害性を ^{51}Cr release assay でみた(Table 2). Bystander 細胞として用いた EL-4, P 815, TA 3.3, A 7 R についてはそれぞれ 66 %, 65 %, 50 %, 57 % の cytotoxicity が観察された. さらに, ヒト肝癌株 PLC/PRF/5 細胞に対しても, 細胞障害活性が観察された. また, この細胞障害活性は anti I-A^d 抗体 (MKD-6, 35-5-3 S) により阻止

Table 1. Blocking of specific antigen presentation by anti-idiotypic antibody

APC	Antigen		anti-Sp603	^3H -thymidine cpm	incorporation % inhibition
	Tnp-OVA ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	OVA peptide ($\mu\text{g}/\text{ml}$)			
A20-2J	200	0	-	72,849	
	200	0	+	70,072	4
	0	2	-	70,413	
	0	2	+	67,169	5
A20-G	2	0	-	69,302	
	2	0	+	5,937	92
	0	2	-	64,987	
	0	2	+	65,884	0
A20-HL	2	0	-	60,300	
	2	0	+	7,752	88
	0	2	-	61,330	
	0	2	+	62,052	0
A δ κ 10	2	0	-	62,236	
	2	0	+	8,415	87
	0	2	-	61,354	
	0	2	+	57,178	7
WEHI 279	2	0	-	49,416	
	2	0	+	49,275	1
	0	2	-	52,601	
	0	2	+	51,737	2
WEHI 279-G	2	0	-	59,169	
	2	0	+	5,997	90
	0	2	-	59,162	
	0	2	+	57,421	0
WEHI 279-M	2	0	-	49,416	
	2	0	+	3,597	93
	0	2	-	53,336	
	0	2	+	55,750	0
WEHI 279-D	2	0	-	57,078	
	2	0	+	5,088	91
	0	2	-	53,279	
	0	2	+	49,001	9

Culture supernatant of anti-Sp603 cells producing anti-idiotypic antibody (anti-Sp 603) was added to assay media at final dilution of 1 : 10. IL-2 production was measured by ^3H -thymidine incorporation of CTLL cells.

Table 2. Cytolysis of bystander cells

	Tnp-OVA (2μg/ml)	A20-HL	⁵¹ Cr release			
			none	+ MKD-6	+ 35-5-3S	+ 14-4-4S
EL4	-	-	-2			
	+	-	-2			
P815	+	+	66	-2	-1	60
	-	-	-2			
TA3.3	+	-	-3			
	+	+	65	1	3	68
A7R	-	-	0			
	+	-	2			
PLC/PRF/5	+	+	50	2	2	53
	-	-	2			
CLL10	+	+	57	0	3	51
	-	-	0			
	+	-	0			
	+	+	41	-1	-4	44
	-	-	-1			
	+	-	2			
	+	+	48	1	5	44

Bystander cells (1×10^4) were radiolabeled with chromium and added in the antigen presentation assay. Culture supernatant of MKD-6, 35-5-3S or 14-4-4S cells was added to assay media at final dilution of 1 : 10.

された。

考 察

B細胞の sIg の役割の 1 つとして、抗原のレセプターとして働くことがある。一般に sIg は多価抗原に出会うと capping を起こし、抗原は細胞内へ internalize される。著者らも、Tnp-OVA あるいは Tnp-KLH で A20-HL を処理した後、抗イデオタイプ α Sp 603 を用いて細胞表面に表出されたイデオタイプ量を FACS 解析したが、確かに sIgtnp 量の減少を認めている³⁴⁾。APC 内に internalize された抗原は、細胞内の endosome 分画で denaturation, proteolysis を受け、最終的には MHC class II gene product-peptide complex を形成し APC 上に表出され、Th 細胞に認識される³⁵⁾³⁶⁾。最近 Th 細胞には、IL 2, gamma IFN を産生する Th 1 細胞と、IL 4, IL 5 を産生する Th 2 細胞の 2 種類があるとされており³⁷⁾、本研究で使用した Th 細胞は、IL 2 producer である。そこで、外来性に移入発現された sIgtnp が抗原レセプターとして機能し Th 細胞に情報伝達できるかどうかを、Th 細胞の IL 2 産生を指標に検討した。Fig. 2 に示すように transfectant は Tnp-OVA, Tnp-KLH を、親株ではみられないような約 10^2 - 10^3 倍の低い抗原濃度で Th 細胞に抗原提示できた。更に、抗原(Tnp-OVA, Tnp-KLH) と sIgtnp との結合を競合阻害する抗イデオタイプ抗体 α Sp 603 により、Th 細胞の活性化は阻止された(Table

1) ことから、確かに sIgtnp が抗原レセプターとして機能していることが示された。このように、抗原特異的 B 細胞は、非常に低い濃度で Th 細胞に抗原提示ができた。In vivo において、二次免疫応答の際の抗原刺激量は、通常一次応答よりも少ない抗原量ですむのは、すでに抗原特異的 B 細胞が誘導されているからかもしれない。

次に、sIgtnp のアイソタイプによる抗原提示への影響をみると、ほぼ同等量のイデオタイプが表出されている A20-HL, A δ κ_{10} , A20-G では、それら transfectant の抗原提示能はほぼ同等で、親株 A20-2J より約 10^3 倍の低い抗原(Tnp-OVA, Tnp-KLH)の濃度で Th 細胞を活性化し得た。また、同程度のイデオタイプを表出している WEHI 279-M, WEHI 279-D では親株に比べ約 10^3 倍の低い Tnp-OVA, Tnp-KLH 濃度で Th 細胞を活性化できたが、ややイデオタイプ表出量の少なかった WEHI 279-G では、親株より約 10^2 倍の低い濃度で抗原提示ができるにとどまった。これらのことは、B細胞の抗原提示能は、sIg のアイソタイプによるのではなく、表出されたイデオタイプの量に依存していることを示唆しているように思われる。

また、APC により抗原提示を受け活性化された Th 細胞が、APC に対して細胞障害活性を有することも観察された。最近、表面マーカーとしてはヘルパータイプの T 細胞が cytotoxic activity をもつことがいくつか報告されてきている¹³⁾⁻¹⁹⁾が、Th 細胞の抗原エピートープが明ら

かで、しかも抗原提示との関係を量的に解析した報告はほとんどない。Th細胞のAPCに対する細胞障害活性の獲得は、IL-2産生と非常に類似して、抗原濃度に依存性であることがわかった。活性化されたTh細胞はAPCのみでなく、bystander細胞に対しても細胞障害活性を示した(Table 2)。EL-4はC57BL/6Nマウス由来のTリンパ腫細胞でステロイドに抵抗性であり、P815はDBA/2マウス由来のmastocytomaでNK細胞に対して抵抗性であることが知られているが、このような細胞腫に対しても細胞障害活性が認められた。また、他にマウスB細胞腫、マウス肝癌細胞腫株、さらにヒト肝癌細胞腫株、Bリンパ腫株に対しても細胞障害活性は認められた。本報告では呈示していないが、ヒト肝癌細胞腫株PLC/PRF/5に対する細胞障害活性は、⁵¹Cr release assayに加えて培養上清中に逸脱するトランスアミナーゼ値からも確認できている。このように、このTh細胞(3DO 54.8)の細胞障害活性は、NK細胞抵抗性株や異腫の腫瘍株に対しても認められ、target認識の機構は、NK細胞あるいはcytotoxic T cellとは異なると推測された。

結 語

細胞表面に抗原特異的免疫グロブリン分子を表出するB細胞は、低濃度抗原でも非常に効率よくヘルパーT細胞に提示が可能であり、その効率は表出するイデオタイプ量に依存することが示唆された。また、IL-2産生とともに観察されたヘルパーT細胞の細胞障害活性は、NK細胞や細胞障害性T細胞の標的細胞の認識機構とは異なることが推測された。

文 献

- 1) Singer, A. and Hodes, R. J. : Annu. Rev. Immunol. 1 : 211, 1983.
- 2) Howie, S. and McBride, W. H. : Immunol. Today 3 : 273, 1982.
- 3) Unanue, E.R. : Annu. Rev. Immunol. 2 : 395, 1984.
- 4) Shimada, S., Caughman, S. W., Sharrow, S. O., Stephany, D. and Katz, S. I. : J. Immunol. 139 : 2555, 1987.
- 5) Inaba, K., Steinman, R., Van Voorhis, W. C. and Muramatsu, S. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80 : 6041, 1983.
- 6) Van Voorhis, W. C., Steinman, R. M. and Hair, L. S. : J. Exp. Med. 158 : 126, 1983.
- 7) Rubinstein, D., Roska, A. K. and Lipsky, P. E. : J. Immunol. 137 : 1803, 1986.
- 8) Rubinstein, D., Roska, A. K. and Lipsky, P. E. : J. Immunol. 138 : 377, 1987.
- 9) Chesnut, R., Colon, S. and Grey, H. : J. Immunol. 128 : 1764, 1982.
- 10) Chenut, R. W. and Grey, H. M. : J. Immunol. 126 : 1075, 1980.
- 11) Lanzavecchia, A. : Nature 314 : 537, 1985.
- 12) Watanabe, M., Wegman, D. R., Ochi, A. and Hozumi, N. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83 : 5247, 1986.
- 13) Erb, P., Grogg, D., Troxler, M., Kennedy, M. and Fluri, M. : J. Immunol. 144 : 790, 1990.
- 14) Fleischer, B. : Nature 308 : 365, 1984.
- 15) Jacobson, S., Richert, J. B., Biddison, W. E. and McFarland, H. F. : J. Immunol. 133 : 754, 1984.
- 16) Tite, J. P. and Janeway, C. A. : Eur. J. Immunol. 14 : 878, 1984.
- 17) Chang, J. C. and Moorhead, J. W. : J. Immunol. 136 : 2826, 1986.
- 18) Ju, S. T., DeKruyff, R. H. and Dorf, M. E. : Cell. Immunol. 101 : 613, 1986.
- 19) Ozaki, S., York-Jolley, J., Kawamura, H. and Berzofsky, J. A. : Cell. Immunol. 105 : 310, 1987.
- 20) Watanabe, M., Yoshikawa, M. and Hozumi, N. : Immunol. Letters 15 : 133, 1987.
- 21) Yoshikawa, M., Watanabe, M. and Hozumi, N. : Cell. Immunol. 110 : 431, 1987.
- 22) Sibley, C. H., Edward, S. J., Kehry, M. R., Douglass, R. H., Rashke, W. C. and Hood, L. E. : J. Immunol. 125 : 2097, 1980.
- 23) Tisch, R., Watanabe, M., Letarte, M. and Hozumi, N. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84 : 3831, 1987.
- 24) Ochi, A., Hawley, R., Shulman, M. and Hozumi, N. : Nature 302 : 340, 1983.
- 25) Potter, H. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 : 7176, 1984.
- 26) Ochi, A., Hawley, R. G., Hawley, T., Shulman, M. J., Traunnecker, A., Kohler, G. and Hozumi, N. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80 : 6351, 1983.
- 27) Farrar, J. J., Fuller-Farrar, J., Simon, P. L., Hilfiker, M. L., Stadler, B. M. and Farrar, W. L. : J. Immunol. 125 : 2555, 1980.
- 28) Plaut, M., Lichtenstein, L. M., Gillespie, E. and Henney, C. S. : J. Immunol. 111 : 389, 1973.
- 29) Glimcher, L. H., Hamano, T., Asofsky, R.,

- Sachs, D. H., Pierres, M., Samuelson, L. E., Sharrow, S. O. and Paul, W. E. : J. Immunol. 130 : 2287, 1983.
- 30) Paul, Q. P., John, L. C. and Melvin, C. : Nature 276 : 510, 1978.
- 31) Alexander, J. J., Bey, E. and Geddes, E. W. : S. Afr. Med. J. 50 : 2124, 1976.
- 32) 吉川正英, 松村圭祐, 許 真久, 江淵恵美, 久保良一, 石坂重昭, 福井 博, 辻井 正 : 第 18 回日本臨床免疫学会総会抄録集, p234, 1990.
- 33) Watts, T. H., Griepy, J., Schoolnik, G. and McConell, H. M. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82 : 5480, 1985.
- 34) Watanabe, M., Tisch, R., Yoshikawa, M. and Hozumi, N. : Antigen Presenting Cells Diversity, Differentiation, and Regulation. Alan R. Liss, Inc., New York, p301, 1988.
- 35) Milles, K. H. G. : Immunol. Today 7 : 260, 1986.
- 36) Harding, C. V., Unau, E. R., Slot, J. W., Schwartz, A. L. and Geuze, H. J. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87 : 5553, 1990.
- 37) Bottomly, K. : Immunol. Today 9 : 268, 1988.